



Aktuelles

Die DBG

Leitlinien

Informationen

Tagungen, Fortbildung

English

Jahrestagung der Deutschen Borreliose-Gesellschaft 2012

in Schweinfurt vom 20.-22. April 2012

Die Landesärztekammer Bayern erkennt den Besuch dieser Tagung mit 17 Fortbildungspunkten an.

 | Programm | Anmeldung und Informationen | Aussteller | Flyer | Pressemitteilung

2012 Schweinfurt

Vom 20.04. – 22.04. 2012 trafen sich internationale und nationale Experten auf Einladung der Deutschen Borreliose Gesellschaft (DBG) in Schweinfurt. Die Teilnehmer/-innen erfreuten sich aufgrund des vielfältigen Programms und der exzellenten Referenten überaus interessanter Beiträge.



Nach der Begrüßung durch Dr. Müller, Vorstandsvorsitzender der DBG, referierte **Dr. Corinna Siegel**, vom Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene am Universitätsklinikum Frankfurt a. M. <http://www.kgu.de/?id=1764> Ihr Thema: „**Die Bedeutung verschiedener CRASP-Proteine für die Komplementresistenz von *Borrelia burgdorferi* s.s.**“

Borrelia burgdorferi sensu stricto (*ss*) hat raffinierte Strategien entwickelt, um zu überleben und den menschlichen Wirt dauerhaft zu infizieren. Um die angeborene Immunität, die erste „Verteidigungslinie“ zu überwinden umhüllt Bb ihre Oberfläche mit Regulatoren des menschlichen Immunsystems, den sogenannten Faktor H und Faktor H-like protein 1 (FHL-1). Diese Wechselwirkung wird in erster Linie durch bis zu fünf genetisch und funktionell verschiedene Moleküle vermittelt, die als Complement regulator-acquiring out surface proteins oder kurz: CRASP bezeichnet werden. Siehe auch: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0013519> und ihre Dissertation zum Thema:

http://www.google.de/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CDwQFjAB&url=http%3A%2F%2Fpublikationen.ub.uni-frankfurt.de%2Ffiles%2F21779%2FDissertation_Siegel_Corinna.pdf&ei=ICWVT_i6O4rIsgbGsIy-BA&usq=AFQjCNHK8CkBmbHgAl5cE0pRiyrM5YRaKA&sig2=BDwdLbQ3WJOWCIOr39Vka

Durch das Sammeln aller Daten konnten zwei Gruppen von CRASP-produzierenden Spirochäten definiert werden. Borrelien-Zellen, die CRASP-1 oder CRASP-2-Oberfläche exprimieren, waren in der Lage, funktionell aktive Faktor H und FHL-1 zu binden, die Schlüssel-Komplement-Komponente C3b zu inaktivieren und sich der Komplement-vermittelten Eliminierung zu entziehen. Im Gegensatz dazu exprimieren *B. garinii* G1 CRASP-3 oder CRASP-5 gebundene Faktor H-verwandte Proteine FHF-1, FHF-2 und FHF-5, aber nicht Faktor H und FHL-1. Da Faktor H-verwandte Proteine regulatorische Aktivitäten vermindert, blieben die Transformanten CRASP-3 oder -5 Komplement-sensitiv.

Vereinfacht ausgedrückt: Borrelien verwenden Bestandteile der menschlichen Immunabwehr und richten diese Waffen gegen den Wirt – in diesem Fall den Menschen. Würde es gelingen, die Maskierung der Erreger mit menschlichen Immunproteinen beispielsweise durch Medikamente zu unterbinden, könnte das Immunsystem die Angreifer erkennen und abwehren bzw. zerstören.



Die Diplom-Biologin **Jasmin Skuballa**, vom Zoologischen Institut des Karlsruher Instituts für Technologie, referierte über „**Die Rolle des Europäischen Igels (*Erinaceus europaeus*) in der Epidemiologie zeckenübertragener Krankheiten**“.

Zur Einführung: <http://www.zecken.de/forschung/borreliose-bei-igeln/> und <http://www.igelkomitee-hamburg.de/Jasmin%20Skuballa%20Nov09.html>

Der Europäische Igel (*Erinaceus europaeus*) ist ein häufig vorkommendes wildlebendes Tier in Mitteleuropa. Da Igel häufig in der Nähe menschlicher Siedlungen leben sind sie potenziell ein Risiko für das Übertragen von Zoonosen. Bis heute gibt es jedoch nur begrenzte Informationen über die Rolle der Igel als Zeckenwirte oder Reservoir für *Borrelia burgdorferi sensu lato* (sl) und andere durch Zecken übertragene Krankheiten, wie z.B. *Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp. und FSME-Virus.

Igel sind nicht nur Wirte für die spezifische Igel-Zecke *Ixodes hexagonus*, sondern auch für die häufigste europäische Zecke, *Ixodes ricinus*. Beide Zeckenarten sind als Überträger von *B. burgdorferi* s. bekannt. Diese Studie konzentriert sich auf die Igel als Wirte für Genospezies des *B. burgdorferi* s.l. Komplexes. Zur Amplifikation der Borrelien-spezifischen 5S-23S intergenetischen Spacer-Region als auch dem äußeren Oberflächenprotein A (OspA) Gen wurde PCR verwendet. Die Sequenzierung zeigte das Auftreten von drei verschiedenen *B. burgdorferi* -Genospezies in *E. europaeus*: *B. afzelii* war die dominierende Genospezies, vertreten durch *B. bavariensis* (früher als *B. garinii* OspA-Serotyp 4 bekannt) gefolgt von *B. spielmanni*.

Die Ergebnisse legen nahe, dass Igel die Epidemiologie bestimmter Genospezies des *Borrelia burgdorferi* s.l.-Komplexes modulieren, was möglicherweise die Verbreitung und Häufigkeit der einzelnen *B. burgdorferi* s.l.-Genospezies in der Natur beeinflusst.



Der Europäische Igel, *Erinaceus europaeus*, ist eine synanthrope Art, die im Siedlungsraum häufig anzutreffen ist. Igelpopulationen werden in suburbanen und ländlichen Habitaten durch das Nahrungsangebot, den Straßenverkehr als auch durch klimatische Faktoren reguliert. Räuber scheinen nur eine geringe Auswirkung auf die Populationsdynamik dieser Art zu haben, jedoch häufen sich Hinweise und Befunde, wonach Parasiten und Pathogene eine große Rolle in der Populationsregulation spielen. Wir untersuchen Wildpopulationen von Igelarten in Europa und anderen geographischen Regionen in Bezug auf ihren Befall mit Parasiten und verschiedene Fitnessparameter. Parallel dazu unterhalten wir eine ca. 40-köpfige experimentelle Igelpopulation, die in einem großen, natürlich gestalteten Habitat lebt und regelmäßig untersucht wird und führen auch gezielte Laborexperimente durch. Durch die so gesammelten Daten zur Parasitenabundanz und zu verschiedenen physiologischen Parametern (z.B. Konzentration von Stress- und Sexualhormonen, Aufzeichnung vielerlei anderer Blutparameter) lässt sich ein vielschichtiges Bild der Wirt-Parasit-Interaktionen erstellen. Zusätzlich wird die Bedeutung von vektorübertragenen Pathogenen (Borrelien, FSME) in Bezug auf Mortalität und Morbidität bei Igelarten und die Rolle des Igels als Reservoirwirt für menschliche Krankheitserreger untersucht. Unsere Untersuchungen umfassen somit allgemeine Fragestellungen der ökologisch-parasitologischen Grundlagenforschung als auch humanmedizinisch relevante Aspekte.

Das Igelprojekt umfasst auch den Vergleich von natürlichen Populationen des Europäischen Igels, mit solchen, die sich nach einer Einschleppung in Neuseeland etabliert haben. Seit seiner Einbürgerung im 19. Jahrhundert hat sich der Igel in Neuseeland zu einem Pestorganismus mit hohen Reproduktions- und Überlebensraten entwickelt. Eine Hypothese, die diesen Erfolg erklärt, basiert auf der fehlenden Populationsregulierung durch Parasiten und Pathogene im Kolonisationsgebiet. Wir untersuchen Igel in Neuseeland, wo die Tiere im Rahmen von Bekämpfungsmaßnahmen zur Verfügung stehen und vergleichen die erhaltenen Daten mit den jeweiligen Vergleichswerten aus Europa. Durch dieses Pilotprojekt wollen wir dazu beitragen, die Ökologie von invasiven Spezies im Kolonisationsgebiet besser verstehen zu können. Quelle: [http://www.rz.uni-](http://www.rz.uni-karlsruhe.de/~dc134/forschung.html#hedgehogs)

[karlsruhe.de/~dc134/forschung.html#hedgehogs](http://www.rz.uni-karlsruhe.de/~dc134/forschung.html#hedgehogs) ***



Prof. Dr. Bernhard Zelger, von der Universität Innsbruck referierte über „Borreliose – Eine diagnostische Herausforderung?“

Das bekannte Spektrum der Hauterscheinungen bei kutaner Borreliose wird ständig erweitert und kann als nicht-abgeschlossen betrachtet werden. Neben den klassischen Manifestationen der kutanen Borreliose wie *Erythema (chronicum) migrans*, Borrelien-Lymphozytom und *Acrodermatitis chronica atrophicans* wächst die Evidenz, dass zumindest teilweise auch andere Hauterscheinungen, insbesondere *Morphea* und *Lichen sclerosus* fallweise mit Borreliose-Infektionen verbunden sind. Auch *Granuloma anulare* und interstitielle granulomatöse Dermatitis könnten teilweise durch *Borrelia burgdorferi* oder ähnliche Stämme verursacht werden. Es gibt auch einzelne Berichte über andere Hauterscheinungen die mit Borrelien-Infektionen in Verbindung gebracht werden, wie kutane Sarkoidose, *Necrobiosis lipoidica* und Nekrobiotisches Xanthogranulom. Zusätzlich kann das moderne Chamäleon der Dermatologie, die kutane Borreliose, insbesondere das Borrelien-Lymphozytom andere Hauterkrankungen wie das *Erythema anulare centrifugum* und lymphozytäre Infiltration (Jessner-Kanof) nachahmen.

Die Diagnose erfolgt üblicherweise durch exakte klinisch-pathologische Korrelation unter Einbeziehung pathologischer, serologischer und molekularer Daten. Die Entwicklung einer hochempfindlichen immun-histochemischen Technik, die sogenannte Fokus-Floating-Mikroskopie (FFM), hat entscheidend die Möglichkeit verbessert, *Borrelia*-Mikroorganismen/Spirochäten in Gewebeproben zu erkennen. Grundsätzlich folgt der Ansatz einer dreidimensionalen ("holistischen")-Scanning-Technik, bei der Proben mäandernd bei gleichzeitiger Fokussierung durch die Dicke der Scheibe gescannt werden.

Der Hand- und Unfallchirurg, Dr. Albin Obiltschnig aus Klagenfurt referierte „Borreliose eine diagnostische und therapeutische Herausforderung“

<http://www.borreliose-gesellschaft.de/de/TagungenFortbildung/2012Schweinfurt/Programm/Obiltschnig>

Die Borreliose und ihre Co -Infektionen gewinnen als Ursache für die Entstehung von vielen Krankheitsbildern immer mehr an Bedeutung. Die Borreliose und die Co -Infektionen sind jedoch schwer zu diagnostizieren und können sich in verschiedensten Krankheitsbildern manifestieren. Eine reine Stadieneinteilung ist bei der Borreliose an sich nicht möglich, da gewisse Stadien einfach übersprungen werden. Ein Problem für die Erkennung der Borreliose ist insofern gegeben, da die Borreliose als Syndrom immer mehrere Fachgebiete überschreitet und hier von den verschiedenen Einzel und Fachgruppen (Dermatologie, Interne Medizin, Orthopädie, Neurologie) keine ganzheitliche Bewertung erfolgt.

Aus diesen Gründen spielt die Labordiagnostik, falls diese überhaupt eingeleitet wird, eine große Rolle. Wir wissen jedoch, dass die Labordiagnostik ebenfalls ausgesprochen schwierig ist. Eine negative Labordiagnostik schließt eine Borrelienerkrankung keineswegs aus. Es ist die Borreliose meist primär anamnestisch und klinisch als Diagnose zu stellen. Alle anderen Ursachen für Krankheitsbild müssen ausgeschlossen werden. Dies bereitet vor allem jüngeren Ärzten, die sich nur mehr an Apparate-Medizin halten, große Probleme. Wenn man nun sämtliche Laborparameter zusammennimmt: Elisa-Test, Immunoblot, PCR, CD 57 Test, Lymphozyten-transformationstest, so hat man eine Trefferquote nur von 70 %. Es bleibt also immer eine Lücke von 30% für die Nichterkennung der Borreliose offen.

Und gerade diese Lücke bereitet uns große Schwierigkeiten. Eine Borreliose, die in mehreren Laborparametern positiv ist, muss immer als Borreliose gewertet werden, negative Ergebnisse können jedoch niemals eine Borreliose ausschließen. Die Schwierigkeiten bestehen also darin, dass eigentlich nur indirekte Nachweise möglich sind. Fehlt eine Immunantwort beim Patienten, kann also, wie bereits oben erwähnt, niemals das Vorhandensein von Antigenen, also der Keime ausgeschlossen werden.

Der direkte Nachweis der Borreliose-Keime gelingt ausgesprochen selten, dies in Folge der geringen Erregerdichte und der langen Halbwertszeit.

Es ist mir nun bereits 1994 gelungen aus Operationspräparaten (Synovia aus beiden Knie und aus dem rechten Handgelenk) in der Kultur Borrelien anzuzüchten. Anhand dieses Beispielen möchte ich jedoch zeigen, wie eine eindeutig bestätigte Borreliose von den damaligen Behandlern beurteilt wurde. Die Patientin wurde trotz des positiven kulturellen Befundes als „Rheumapatientin“ behandelt und es wurde ihr von 1994 bis zum heutigen Zeitpunkt alle nur erdenklichen Antirheumatika verabreicht. Trotz großer Unverträglichkeit und mangelnden Erfolgs wurden diese Therapien beibehalten.

Rein zufällig konnte ich diese Patientin nun nach 18 Jahren wieder nachuntersuchen und es waren leider die Laborergebnisse in sämtlichen Parametern nach wie vor positiv und die Patientin in einem ausgesprochen schlechten Zustand. Der Fall dieser Patientin wird exakt dargestellt.

Weiters wird auf 104 schwerste Borrelienfallpatienten, die von mir von 1.1.2009 bis 31.12.2011 behandelt wurden eingegangen. Es wurde hier speziell auf die Beteiligung der peripheren Nerven Augenmerk gelegt und es zeigt sich bei diesen Patienten, die fallweise mehrfach operativ versorgt werden mussten, dass nur ein bleibender Erfolg, das heißt eine Besserung ohne Rezidive, operativ erzielt werden kann wenn auch bereits vor der Operation mit einer antibiotischen Therapie begonnen wird. Es wird bei all diesen Fällen auf die zusätzlichen Beteiligungen der Gelenke und Sehnen eingegangen und auch auf die Laborparameter.

Von diesen 104 Patienten werden 2 Fallbeispiele gezeigt.

Schlussfolgerung

Aus diesen Statistiken geht hervor, dass die Borrelienserologie fallweise erst, bei klinischem Verdacht, in späteren Jahren positiv wird, vor allem erst nach anfänglicher Antibiotikatherapie dass jedoch klinisch der Befund vor allem mit dem CD 57 Test korreliert. Je schlechter der CD 57 Test ausfällt, desto mehr Probleme hatte der Patient von Seiten mehrerer Organmanifestationen.

Es muss jedoch abschließend gesagt werden, dass bei zu fortgeschrittenen Befunden, das heißt betroffen sein von Nerven, Gelenken und Sehnen, es eine endogene Reinfektionsquelle gibt wie Sie anhand meiner Dokumentationsaufnahmen sehen. Massivste Verdickungen der Synovia und der Sehnscheiden lassen eine antibiotische Erreichbarkeit der Keime nicht mehr zu. Es muss also an eine Herdsanierung gedacht werden und erst anschließend kann, wahrscheinlich mit höherer Sicherheit, eine Erfolgsaussicht bei antibiotischer Therapie gegeben werden. Es ist also nicht nur die Diagnose, sondern auch die Therapie eine Herausforderung. Es ist jedoch anzuführen, je schneller nach Auftreten einer Borreliose eine Therapie eingeleitet wird, desto größer und selbstverständlicher sind die Erfolgsgeschichten.

K. Schwarzová, PhD¹, H. Hupková¹, Z. Košťanová² (1 Institut für Mikrobiologie, Medizinische Fakultät und Universitätsklinikum, Bratislava, 2 Regionale Public Health Authority, Department of Public Health, Žiar nad Hronom, Slowakische Republik). Das Thema: **Unterschiede in der Labordiagnostik der Lyme-Borreliose - Fallberichte mit neurologischen Komplikationen**

Die Lyme-Borreliose (LB) ist ganz oben auf der Liste der gemeldeten/registrierten zeckenübertragenen Erkrankungen in der Slowakei. In den vergangenen 10 Jahren (2002-2011) betrug die durchschnittliche Erkrankungsrate 15,18 / 100 000 Einwohner. Vergleicht man den letzten 5-Jahres-Durchschnitt kann man eine Erhöhung der Anzahl aller LB Fälle um etwa 40% feststellen. Klinische Proben von 255 Patienten wurden von Juni bis Dezember 2011 unter Verwendung von kommerziell erhältlichen ELISA- und Western-Blot-WB (getestet sowohl von EUROIMMUN Anti-Borrelia IgG- und IgM-Kit mit VlsE) getestet. Aus dieser Gruppe waren 17 Proben (6,6%) IgG / IgM-ELISA positiv, negativ im WB (neurologische Komplikationen wurden bei drei Fällen berichtet). Ansonsten waren 34 Proben (13,3%) IgG / IgM ELISA-negativ, aber WB positiv

(neurologische Komplikationen wurden in fünf Fällen berichtet). Fallberichte mit diesen neurologischen Komplikationen wurden vorgestellt..



Dr. Wolfgang Klemann, FA für Innere Medizin, Pforzheim, referierte über „Erfahrungen mit Langzeitantibiose bei Spätborreliose und Argumente dafür; Erkenntnisse über Biofilme als Ursache chronischer Infektionen“

<http://www.borreliose-gesellschaft.de/de/TagungenFortbildung/2012Schweinfurt/Programm/Klemann>

Patienten, welche nach einem Zeckenstich mit nachfolgendem Erythema migrans anhaltende Symptome wie Gelenkschmerzen, Nackenschmerzen, Kopfschmerzen, Benommenheit, Erschöpfung usw. entwickelten, jedoch keine Borreliose-Antikörper, waren der Anlass für eine eigene retrospektive Fallbetrachtung, welche 105 Patienten umfasst, die mit dem klinischen Verdacht auf chronische Lyme-Borreliose die Praxis aufsuchten. Da trotz vorausgegangener Kurzzeit-Antibiose der Erreger weiterhin in Hautbiopsaten oder Gelenkpunktaten nachgewiesen werden konnte, schien es gerechtfertigt, auf eine weiter bestehende Borrelioseinfektion zu schließen.

Es zeigte sich, dass unter mehrwöchiger bis mehrmonatiger Antibiose auch bei Patienten mit jahre- bis jahrzehntelanger Vorgeschichte totale Remission erreichbar war, und dies immerhin in 37% der Fälle.

In 56% der Fälle konnte Beschwerdebesserung erreicht werden, aber trotz monatelanger Behandlung kam es bei diesen Fällen zu Rezidiven, wobei durch jeweils neuerliche 3-4-wöchige Antibiose jeweils wieder Besserung erzielt werden konnte. Im Verlauf kam es auf diese Weise zu immer längeren Perioden weitgehender Beschwerdefreiheit. Genannte Behandlungserfolge zeigten sich eher unter i.v.-Applikation der Antibiotika, weniger unter lediglich oraler Antibiose. Die Erfahrung, dass in einem beachtlichen Prozentsatz von Spätborreliose-Fällen Total-Remission erreichbar war, war der Anlass für konsequente Langzeit-Therapie bei Fällen mit entsprechender Vorgeschichte.

Ergebnisse der Grundlagenforschung zeigen, dass der Erreger neben der spiraligen Form in weiteren Erscheinungsformen vorkommen kann – und dies nicht nur in der Kultur, sondern auch im Gewebe.

Stichworte dazu

Zystische Form von Bb,
Granuläre Form von Bb,
Zellwandlose Form von Bb;

Die Erkenntnis, daß diese weitgehend stoffwechsellinaktiven Formen durch übliche Antibiotika nicht getroffen werden und nur wenige Substanzen bzw. Substanzgruppen auf diese „Schläferformen“ zielen, war der Grund, die Behandlungsstrategie von ursprünglich praktizierter antibiotischer Monotherapie auf Kombinationsantibiose zu erweitern. Die Antibiotika- Auswahl - basierend auf bekannten Wirkmechanismen - wird unter diesen speziellen Aspekten begründet; bevorzugt eingesetzte Antibiotika sind u.a. Doxycyclin, Minocyclin, Tetracyclin, Metronidazol, Tinidazol, Hydroxychloroquin, Makrolide, Betalactamantibiotika.

Die komplexen und mannigfaltigen Wechselwirkungen von Borrelien mit Fasern des Bindegewebes bzw. mit Strukturen von Bändern u. Sehnen werden dargestellt (zitiert nach Kurt E. Müller).

Biofilme als Ursache eines beträchtlichen Teils akuter Infektionen werden aus einer Übersichtsarbeit von K. Kerksiek (Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung, Braunschweig) zitiert.

Anmerkung J-B: Siehe auch: [http://www.infection-research.de/de/perspectives/detail/pressrelease/a life in slime biofilms rule the world-2/](http://www.infection-research.de/de/perspectives/detail/pressrelease/a%20life%20in%20slime%20biofilms%20rule%20the%20world-2/)

Relevante Zitate aus Verlautbarungen der Forschergruppe um Prof. Eva Sapi zum Thema Biofilm bei Borreliose werden genannt.

Anmerkung J-B: Siehe auch: http://www.youtube.com/watch?v=AmvgOfIN_8c

Relevante Passagen einer Übersichtsarbeit von Andreas Wieser und Sören Schubert (Pettenkofer Institut München) als Beispiel eines Intra- u. extrazellulären Biofilmes uropathogener E.coli-Bakterien werden zitiert.

Andreas Wieser und Sören Schubert, München

<http://www.chemotherapie-journal.de/archiv/verzeichnis/2011/06.html>

Intra- und extrazelluläre Biofilme uropathogener E. coli - Bedeutung für die Pathogenese des Harnwegsinfekts

Biofilme sind bekanntermaßen eine wichtige Wachstumsform von Bakterien. Vor allem in harschen Umweltbedingungen besitzen Biofilme eine besondere Bedeutung, da sie die in ihnen lebenden/überdauernden Bakterien effektiv vor vielen verschiedenen Umwelteinflüssen schützen. In den letzten Jahren konnte die Bedeutung von Biofilmen bei immer mehr Infektionen des Menschen nachgewiesen werden. Gleichzeitig kommt es in der Humanmedizin zu immer stärkerer Nutzung von implantierbaren Fremdkörpern, auf denen sich bekanntermaßen in vivo besonders leicht Biofilme bilden können. Dieser Artikel beinhaltet eine kurze Zusammenfassung verschiedener Medline-gelisteter Artikel sowie eigene Beobachtungen aus verschiedenen Harnwegsinfektionsmodellen. Es sollen Einsichten in den Ablauf der Harnwegsinfektion sowie neue mögliche Therapie- und Prophylaxemaßnahmen aufgezeigt werden. Ein besonderes Augenmerk legt der Artikel auf intrazelluläre Biofilme, deren humanmedizinische Relevanz immer noch unklar ist.

Resultierende neu Therapiemöglichkeiten für Biofilminfektionen, zitiert nach K. Kerksiek, u.a.: „...an wirksamen Behandlungsmethoden für Biofilm-Infektionen gibt es verschiedene Strategien: Man kann beispielsweise verhindern, dass die Bakterienzellen sich aneinander heften, oder man vermindert die Polysaccharidproduktion und stört die Zell-Zell-Kommunikation.“

„Die schleimige extrazelluläre Matrix der Biofilme schützt die Mikroorganismen vor einer Fülle von Feinden, so vor dem Immunsystem, mikrobenehmenden Wirkstoffen und den meisten Bakteriophagen (Viren, die Bakterien infizieren). Lu und Collins konstruierten gentechnisch veränderte Bakteriophagen, die Schleim abbauende Enzyme ausscheiden und so ins Innere des Biofilms vordringen können. Dort zerstören sie den Biofilm weiter, indem sie die Enzyme in übergroßen Mengen produzieren und dann die Bakterien abtöten. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2007 104: 11197-11202)“.

<http://www.google.de/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&sqj=2&ved=0CDYQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.pnas.org%2Fcontent%2F104%2F27%2F11197.full.pdf&ei=-XaVT9qFFENDIswws5KjZBA&usq=AFQjCNGeoD3rBQ7nHbBlBtgesJ5UBFQtgg&sig2= 2BQL9p-O8SVwwSvr39nYA>


Dr. Mark Eshoo, Director bei Ibis Biosciences, einem Tochterunternehmen von Abbott Molecular, San Diego, Kalifornien, referierte über: „**Direkte Detektion und Genotypisierung bei früher Lyme-Borreliose aus Vollblut**“



Die Früherkennung einer *Borrelia burgdorferi*-Infektion und eine genaue Diagnose und Behandlung der Lyme-Krankheit ist wichtig, um Spätfolgen zu verhindern. Allerdings ist die Infektion oft schwierig zu diagnostizieren, 1. wegen der Variabilität der klinischen Symptome und 2. Wegen der biologisch verzögerten Antikörper-Produktion auf dem die aktuellen serologischen Tests basieren. Direkte molekulare Blut-Tests bei früher Lyme-Borreliose können aufgrund der geringen Menge der zirkulierenden Borrelien-DNA ungenau sein. Um dieser Herausforderung zu begegnen, haben wir eine sensitive Strategie entwickelt, um sowohl *B. burgdorferi* zu erkennen, als auch zu genotypisieren, direkt aus Vollblut beim ersten Patientenbesuch. Diese Strategie verbessert die Empfindlichkeit, durch das große Blutvolumen, eine neuartige Vor-Anreicherung der gesamten Probe mit Borrelien-DANN vor der Multi-Locus-PCR und dem Elektrospray-Ionisierung-Massenspektrometrie-Nachweis-Assay. Wir verglichen unsere Tests aus den Erstbesuchen mit der 2-stufigen Serologie mit Proben von 21 Patienten mit klinisch diagnostizierter akuter und rekonvaleszenter Serologie mit bestätigter früher Lyme-Borreliose. Die Ergebnisse dieser Analyse zeigte die Entdeckung von *B. burgdorferi* in 13 von 21 Patienten (62%). In den meisten Fällen enthält der neue Test auch den *B. burgdorferi*-Genotyp. In 5 von 21 Fällen haben wir *B. burgdorferi* bei früher Lyme-Borreliose direkt aus Vollblutproben, noch vor der Serokonversion entdecken können. Die kombinierten Ergebnisse unserer direkten Nachweis-Assays mit Serologie beim ersten Arztbesuch ergab den Nachweis von früher Lyme-Borreliose bei 19 von 21 (90%) Patienten gleich beim ersten Besuch.

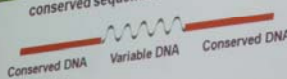
Challenges of Vector-Borne Diseases

- Most tick-borne pathogens are unculturable
 - Presence of multiple, unidentifiable pathogens may increase co-infections.
 - Different pathogens may require different treatments.
- Most vector-borne diseases have similar “flu-like” symptoms.
- Vector-borne diseases if untreated may cause chronic illness.
 - Lyme Borreliosis, Babesiosis
- **Current limitations of serological tests**
 - Not effective for detecting early Lyme.
 - Cannot distinguish between an active infection and previous exposures.


German Borreliosis Society meeting April 20, 2012
 **Abbott**
A Promise for Life

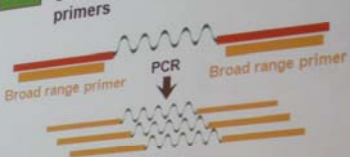
The Abbott PLEX-ID Approach to Pathogen ID and Strain-Typing

STEP 1 Identify genomic regions for identification:
Variable DNA sequences flanked by conserved sequences



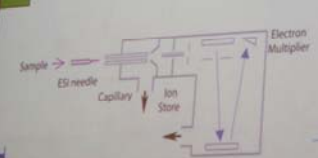
Conserved DNA Variable DNA Conserved DNA

STEP 2 Amplify nucleic acids to measure:
Use broad-range, unbiased PCR primers




Broad range primer PCR Broad range primer

STEP 3 Measure nucleic acid:
ESI-TOF Mass Spectrometry



Sample → ESI needle → Capillary → Ion Store → Electron Multiplier

STEP 4 Identify the organisms:
Base-composition fingerprints



As: 17
Gs: 30
Cs: 11
Ts: 61

Vector-Borne Microorganism Detection Assay (4th generation)

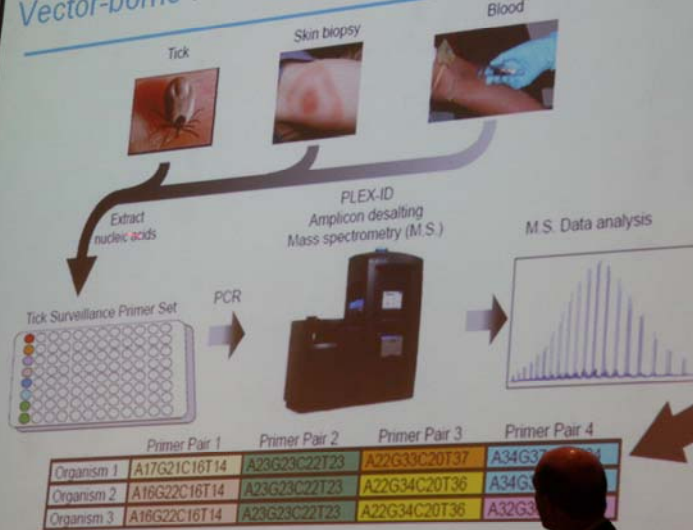
Designed to detect and identify to the species level a broad range of vector-borne microorganisms, including co-infections.
Performed in 8 multiplex PCR reactions.

Well	Primer Pair	Target Clade/Genus	Target
1	3517 + 2328 + 3511 + 4855	Spirochetes + Francisella + Babesia	flagellin + gyrB + asd + β-tubulin
2	3514	Spirochetes	rpoC
3	1083	Rickettsia	rmpA
4	4437	Pumpkin Extraction Control	Positive control
5	3575	Alphaproteobacteria	rpoB
6	4443	Babesia	18S rRNA
7	2217	Flavivirus	RdRp
8	3570 + 2215	Alphaproteobacteria + Flavivirus	gltA + RdRp


Species level ID of members
of the following genera:

Anaplasma
Babesia
Borrelia
Ehrlichia
Francisella
Rickettsia
Flavivirus
Bartonella
Heartworm
Leishmania


Vector-borne Pathogen Detection Assay



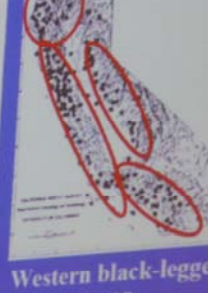
Identification of Tick Species by Endosymbiont




Pacific Coast tick
D. occidentalis




American Dog Tick
D. variabilis




Western black-legged tick
I. pacificus



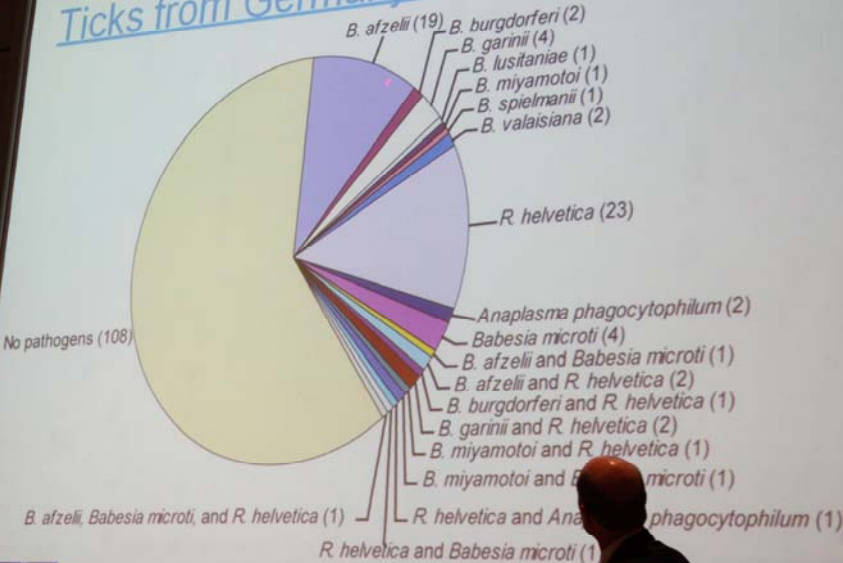
<http://www.cdph.ca.gov/HealthInfo/diseases/Documents/TBDPhysician.pdf>
 The Ticks of California, by D. Furman and E. L.




German Borreliosis Society meeting April 20, 2012




PLEXID analysis of 178 *Ixodes ricinus* Ticks from Germany



Pathogen(s)	Count
No pathogens	108
<i>B. afzelii</i>	19
<i>B. burgdorferi</i>	2
<i>B. garinii</i>	4
<i>B. lusitanae</i>	1
<i>B. miyamotoi</i>	1
<i>B. spielmanii</i>	1
<i>B. valaisiana</i>	2
<i>R. helvetica</i>	23
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	2
<i>Babesia microti</i>	4
<i>B. afzelii</i> and <i>Babesia microti</i>	1
<i>B. afzelii</i> and <i>R. helvetica</i>	2
<i>B. burgdorferi</i> and <i>R. helvetica</i>	1
<i>B. garinii</i> and <i>R. helvetica</i>	2
<i>B. miyamotoi</i> and <i>R. helvetica</i>	1
<i>B. miyamotoi</i> and <i>Babesia microti</i>	1
<i>B. afzelii</i> , <i>Babesia microti</i> , and <i>R. helvetica</i>	1
<i>R. helvetica</i> and <i>Anaplasma phagocytophilum</i>	1
<i>R. helvetica</i> and <i>Babesia microti</i>	1



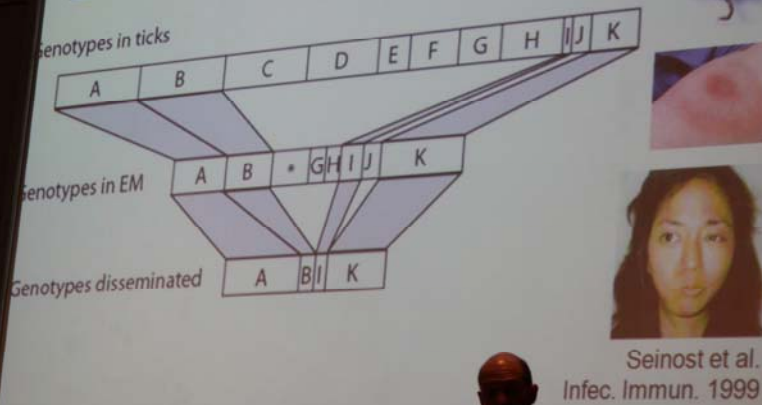
German Borreliosis Society meeting April 20, 2012

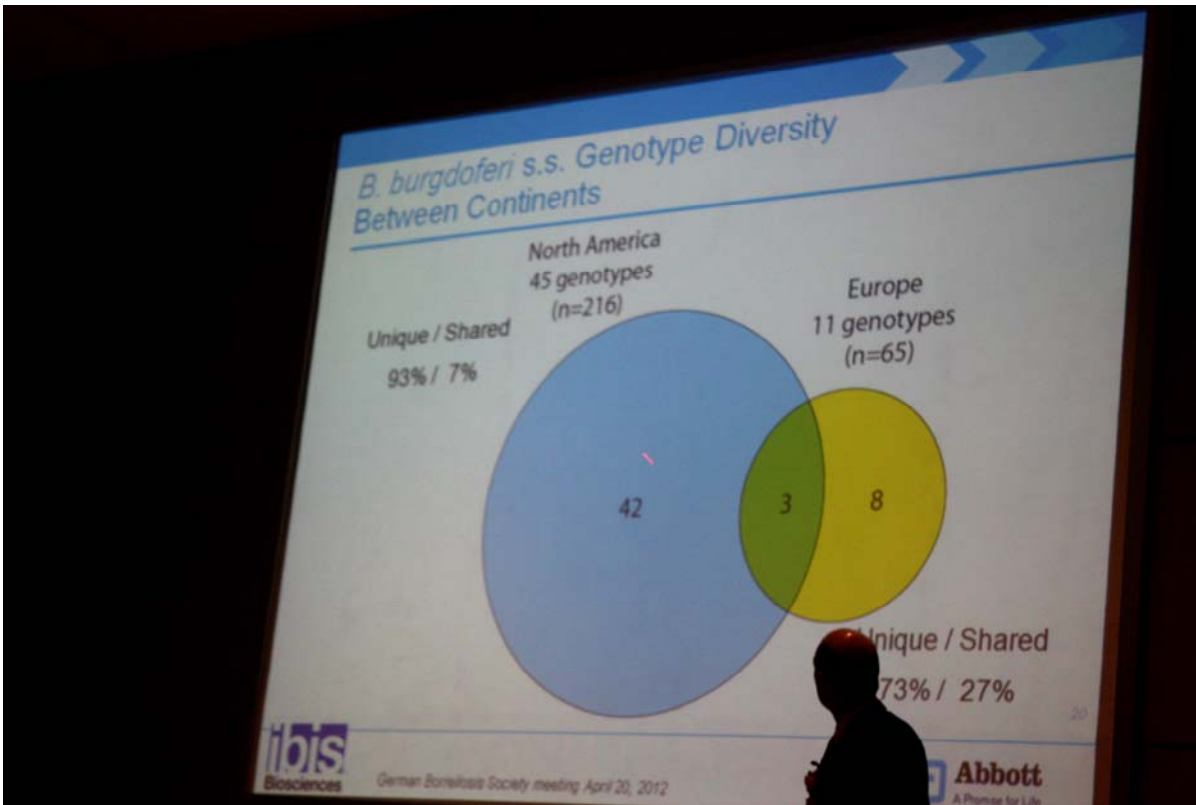


Borrelia burgdorferi and Genotypes

- *Borrelia burgdorferi* s.s. has been shown to have multiple genotypes present in the areas where it is found.
- Some genotypes have been shown to persist longer in mice and affect disease severity.
- Mixtures of genotypes may challenge the immune system in unknown ways.
- The Ibis *Borrelia* genotyping assay can speciate and genotype *Borrelia* that cause Lyme Borreliosis in both North America and Europe.
- The Ibis *Borrelia* genotyping assay provides a higher resolution of genotypes >83 genotypes found to date.
- The Ibis *Borrelia* genotyping assay can resolve genotype mixtures.

Not all Genotypes Are the Same





Challenges for the Detection of *Borrelia* Directly from Blood.

- *Borrelia burgdorferi* is in the blood at extremely low levels.
 - One study estimated that only 0.1 cultivable *B. burgdorferi* cells per mL of blood¹.
 - The median sensitivity for PCR detection is 14% with a highly variable range (0-100%)².
 - Culturing *Borrelia* from blood has shown to have lower sensitivity than direct PCR³.
- Whole blood contains many PCR inhibitors.
- High levels of human DNA

¹Wormser, JAMA 1999;
²Aguero-Rosenfeld, Clin Micro Rev 2005;
³Cerar, J Clin Micro 2008

German Borreliosis Society meeting April 20, 2012

Detecting *Borrelia burgdorferi* DNA in Whole Blood

300 genomes/ml of whole Blood is the DNA from ~15 *Borrelia* cells.
Not a lot of DNA for use directly in PCRbut still a lot of DNA. Many specimens may have lower amounts than this!

Sample Preparation

- Efficient sample preparation.
- Use largest vol of sample possible.
- Enrich for target DNA using extract from entire sample

Detection Assay

- Assay must be sensitive and specific.
- Must be able to function in the presence of over-whelming amounts of human DNA.
- Use multiple redundant diagnostic markers to overcome stochastic effects

Conclusions of Study:

- IA/PCR/ESI-MS assay can detect less than one genome copy of *Borrelia*/ml of whole blood.
- IA/PCR/ESI-MS detected early Lyme in 13/21 patients (62%).
- IA/PCR/ESI-MS + 2-tier serology detected early Lyme 19/21 patients (90%).
- IA/PCR/ESI-MS detected Lyme prior to seroconversion.
- IA works in the presence of high levels of human DNA background.
- IA adds minimal extra steps to workflow.
 - No clean-up needed for use in PCR.
- 9/14 IA/PCR/ESI-MS positive specimens yielded a *Borrelia* genotype.

Eshoo et al. Direct Molecular Detection and Genotyping of *Borrelia burgdorferi* from Blood of Patients with Early Lyme Disease. PLoS ONE - In Press April 2012



http://www.abbott.com/news-media/press-releases/2011-august10_1.htm

Fortsetzung (der anderen Beiträge) folgt!

Birgit Jürschik-Busbach

www.verschwiegene-epidemie.de